



ACTIVIDAD DE EXOCELULASA EXTRACELULAR DE *Colletotrichum lindemuthianum*

Alberto Flores García, Mónica Alicia Calderón Oropeza y Mauro Manuel Martínez Pacheco
Instituto de Investigaciones Químico Biológicas de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Edificio B1,
Ciudad Universitaria, Morelia, Mich. C.P. 58060. Telfax 443 3 26 57 88. Dirección electrónica:
mpacheco@zeus.umich.mx

Palabras claves: *Colletotrichum lindemuthianum*, exocelulasas

Introducción. Organismos hemibiótrofos como *Colletotrichum lindemuthianum* el agente causal de la antracnosis del frijol obtienen glucosa a partir de la degradación de la celulosa, por medio de un complejo enzimático poco estudiado en este hongo. En la caracterización del complejo celulolítico extracelular de *C. lindemuthianum* se encontró que posee actividad enzimática de β -glucosidasas y de endocelulasas. En este trabajo se reporta la caracterización parcial de la actividad de exocelulasa que posee este hongo. Se determinó el curso temporal de la producción de exocelulasa y se determinaron algunas constantes cinéticas aparentes.

Metodología

El aislado silvestre de *C. lindemuthianum* (Afg2) se creció en medio mínimo líquido con celulosa al 2% como fuente de carbono, con una densidad de inóculo de 5×10^8 esporas/ml de medio de cultivo. Los cultivos se incubaron a temperatura ambiente y en agitación constante durante 20 días. Cada dos días se tomaron alícuotas de 10 ml para la determinación enzimática. Determinación enzimática de la exocelulasa. Se preparó la mezcla de reacción con; 1 a 3 μ g de proteína en 40 μ l, 100 μ l de avicel (Merck) al 3% con 260 μ l de regulador de acetato de sodio 50 mM a un pH de 5.0. La mezcla de reacción se incubó por 6 h en un baño maría a 50 °C. Se determinó la cantidad de azúcares reductores por el método del DNS(1).

Resultado y discusión.

Se encontró que la mayor actividad enzimática se obtuvo a los veinte días en los que se alcanzó una actividad específica de 3.3 μ mol/mg prot/min, los parámetros para la actividad enzimática óptima fueron: temperatura de 30, 40 y 50 °C, con una estabilidad térmica media de 5 minutos a 70 °C, pH de 3.5-5.8, se inhibe con metales a concentraciones micromolares (plomo, plata y cobre) y la celobiosa a concentraciones milimolares. Presentó las siguientes constantes aparentes: K_m de 28 μ M y una V_m de 9.95. Se sugiere que *C. lindemuthianum* posee un complejo enzimático de al menos tres actividades responsables de la degradación de la celulosa.

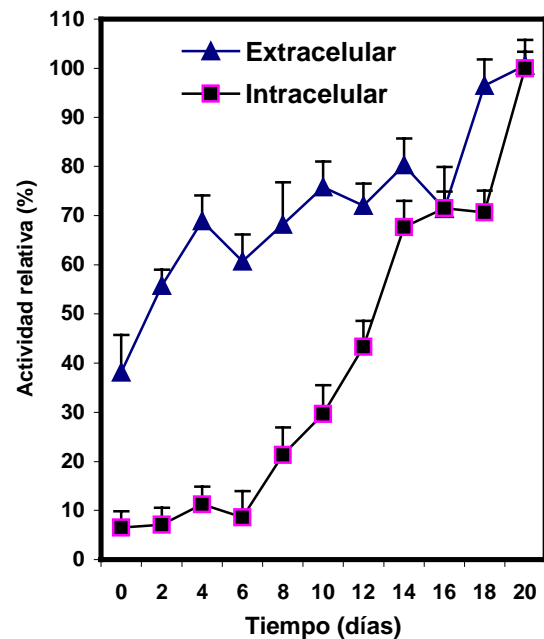


Figura 1. Actividad relativa de la exocelulasa intracelular y extracelular de *C. lindemuthianum* crecido en medio mínimo líquido con celulosa al 2%. Promedio de tres experimentos independientes con tres repeticiones (Tukey $\alpha = 0.01$)

Agradecimientos.

El presente trabajo fue apoyado por la UMSNH (CIC-2.1MMP-2006). M.A.C.O. es becario de posgrado del CONACYT

Bibliografía.

1. Noato-Hubu, Igarashi, K., Samejimat, M., Pettersson, B. y Eriksson, L. K-E. 1997. Enhanced production of cellobiose dehydrogenase in cultured of *Phanerochaete crysosporium* supplemented with bovine calf serum. Biotechnol. Appl. Biochem. 20:97-102..